

XXXII Congresso Brasileiro de Ciência do Solo

“Isolamento de fungos de solo de manguezal da Reserva Ecológica de Sapiiranga”

RAÍSSA MESQUITA BRAGA⁽¹⁾, MARIZA VIEIRA DA FONSECA SABOIA AMORIM⁽²⁾, GENILTON DA SILVA FAHEINA JUNIOR⁽³⁾, VERÔNICA REGINA DE OLIVEIRA LOPES⁽⁴⁾, CAROLINE GONDIM DE SOUZA⁽⁵⁾, SUZANA CLAUDIA SILVEIRA MARTINS⁽⁶⁾, GUSTAVO ADOLFO SAAVEDRA PINTO⁽⁷⁾ & CLAUDIA MIRANDA MARTINS⁽⁸⁾

RESUMO – A hipótese do trabalho foi baseada na diversidade de fungos no solo de manguezal. O objetivo do presente trabalho foi isolar e estimar a população de fungos do solo do manguezal da Reserva Ecológica de Sapiiranga (Fortaleza-CE). Foram coletadas 12 amostras de solo no mês de março/2009 (maré 0.1, estação chuvosa). Primeiramente, as amostras foram homogeneizadas e quarteadas. De cada amostra foram pesados 25 gramas que foram suspensos em 225mL de solução salina 0,9% com 0,1% de cloranfenicol, pH 3,5. Após agitação a 150 rpm, 30°C por 1h, a suspensão foi diluída seriadamente e as concentrações 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} foram plaqueadas em triplicatas em meio ágar Martin e incubadas a 30°C durante 72h. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias e estas foram isoladas de acordo com as suas características macroscópicas. A concentração de microrganismos variou entre $2,2 \cdot 10^4$ e $59,0 \cdot 10^4$ UFC.g⁻¹ de solo. Foram isolados 143 fungos (48 leveduras e 95 fungos filamentosos). Os resultados apontam para a grande diversidade microbiológica existente no solo de manguezal.

Palavras-Chave: leveduras, microrganismos do solo, halófila.

Introdução

Os mangues correspondem a um tipo de vegetação arbóreo-arbustiva, que se desenvolve principalmente nos solos lamosos dos rios tropicais e subtropicais ao longo da zona de influência das marés. É um ambiente

propício à produção de matéria orgânica. Os manguezais são caracterizados por uma baixa diversidade de espécies arbóreas resistentes a condições halófilas [1]. As principais espécies encontradas nos manguezais do Nordeste do Brasil são: *Rhizophora mangle* L., *Avicennia shaueriana* Stapf. & Leechman, *Avicennia germinans* L., *Laguncularia racemosa* Gaerth. e *Cornocarpus erecta* L. Estas espécies possuem adaptações específicas que permitem a sua sobrevivência nesse ambiente hostil [2].

O manguezal abriga uma comunidade microscópica que desempenha um papel de grande importância na manutenção e funcionamento da dinâmica ambiental, considerando sua participação na transferência de energia dentro da cadeia alimentar. A ação de microrganismos produz uma grande quantidade de matéria orgânica a partir da decomposição da vegetação de mangue, sendo de grande importância para a cadeia alimentar [2].

Os microrganismos apresentam uma imensa diversidade genética e desempenham funções únicas e cruciais na manutenção de ecossistemas, como componentes fundamentais de cadeias alimentares e ciclos biogeoquímicos [3]. O solo comanda a produtividade vegetal dos ecossistemas terrestres e mantém os ciclos biogeoquímicos no qual os microrganismos têm potencial para degradar todos os compostos orgânicos [4]. O papel fundamental dos microrganismos envolve uma habilidade de conversão de variados substratos orgânicos aquo-solúveis (isto incluindo compostos de solubilidade muito baixa como hidrocarbonetos e esteróides), através de complexas seqüências de reações catalisadas por enzimas, geralmente por eles produzidas [5]. Por esse motivo, fungos podem ser utilizados para biorremediação de

⁽¹⁾ Primeiro Autor é Aluna do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760. E-mail: raissa_@hotmail.com.

⁽²⁾ Segundos autor é aluna do curso de Doutorado Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Estadual do Ceará, Av. Paranjana, 1700, Campus do Itaperi, Fortaleza, CE, CEP 60740-000.

⁽³⁾ Terceiro autor é Aluno do Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁴⁾ Quarto autor é Aluna do Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁵⁾ Quinto autor é Aluna do Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Ceará, Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁶⁾ Sexto autor é Professora Adjunta IV do Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

⁽⁷⁾ Sétimo autor é pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Agroindústria Tropical, Laboratório de Bioprocessos. Rua Dr^a. Sara Mesquita, 2270, Pici, Fortaleza, CE. CEP 60511-110.

⁽⁸⁾ Oitavo Autor é Professora Adjunta II do Departamento de Biologia, Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará. Av. Humberto Monte s/n, Campus do PICI, Fortaleza, CE, CEP 60455-760.

Apoio financeiro: CAPES e CNPq.

poluentes na água e no solo [6]. Além disso, possuem grande relevância como produtores de antibióticos ou enzimas, como fermentadores e como organismos antagônicos a patógenos ou pragas [7].

Há cerca de 100 milhões de microrganismos em cada grama de solo fértil [5]. O solo é um excelente habitat microbiano, local de vida de diversas populações de microrganismos, constituindo um reservatório de grande diversidade genética microbiana [7]. Em estimativas sobre a contribuição dos maiores grupos de organismos para o total da diversidade biológica, os fungos ocupam o segundo lugar, com 8% [8]. Atualmente se sabe que menos de 5% das espécies existentes de fungos no nosso planeta foram descritas [9]. A diversidade microbiana no solo está relacionada com a complexidade das interações microbianas no solo, incluindo as interações entre os microrganismos e solo e entre os microrganismos e plantas. As raízes de plantas liberam uma ampla variedade de compostos no solo circundante, incluindo etileno, açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos, vitaminas, polissacarídeos e enzimas. Esses compostos criam um ambiente único para os microrganismos viverem em associação com as raízes das plantas, na rizosfera [10].

Os fungos de manguezais constituem o segundo maior grupo de fungos marinhos e são de enorme interesse científico por possuírem constituição, vias metabólicas, sistemas reprodutivos e mecanismos de defesas únicos, pois são adaptados a ambientes extremos. Portanto, fungos de manguezais representam uma fonte única de informação genética [11].

Entre os benefícios científicos esperados de um maior conhecimento sobre a diversidade microbiana, estão a melhor compreensão das funções exercidas pelas comunidades microbianas nos ambientes terrestres e o conhecimento das suas interações com outros componentes da biodiversidade, como por exemplo, as plantas e os animais [3].

O presente trabalho teve como objetivo isolar e estimar a população de fungos de solo do manguezal da Reserva Ecológica de Sapiiranga.

Material e Métodos

As amostras de solo de Mangue foram coletadas no mês de março/2009 (maré 0.1, estação chuvosa) na Reserva Ecológica de Sapiiranga (Figura 1). Os pontos de coletas foram selecionados de acordo com características da região próxima, como vegetação, presença de matéria orgânica, odor característico de decomposição e inundação do local (Tabela 1), perfazendo no total 12 pontos (Figura 2). As amostras coletadas foram armazenadas em bolsas herméticas vedadas e acondicionadas sob baixa temperatura em caixa de isopor. O solo foi processado no laboratório de Bioprocessos da Embrapa Agroindústria Tropical. Inicialmente o solo foi homogeneizado e quarteado. De cada amostra foram pesados 25 gramas de solo que foram suspensas em 225 mL de solução salina 0,9% adicionada de cloranfenicol 0,1%, pH 3,5 [12] e permaneceram sob agitação a 150 rpm, 30°C durante

1h em mesa agitadora. A suspensão foi diluída seriadamente até se obter as concentrações 10^{-3} , 10^{-4} e 10^{-5} que foram plaqueadas em triplicatas em meio ágar Martin (K_2HPO_4 1,0g.L⁻¹; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5g.L⁻¹; peptona 5,0g.L⁻¹; glicose 10g.L⁻¹; rosa bengala 0,06g.L⁻¹; ágar 15g.L⁻¹) e incubadas em B.O.D. a 30°C durante 72h [13]. Após esse período, foi realizada a contagem das colônias e estas foram isoladas e caracterizadas de acordo com as suas características macroscópicas (Figura 3).

Resultados

A maior concentração de Unidades Formadoras de Colônia por grama de solo (UFC.g⁻¹) foi obtida no ponto 8. A menor concentração ocorreu na amostra isolada do ponto 5, onde se observou um forte odor de material em decomposição. Ambas amostras foram coletadas em rizosfera de *R. mangle*. A concentração de microrganismos variou entre $2,2 \cdot 10^4$ e $59,0 \cdot 10^4$ UFC.g⁻¹ de solo.

No total foram isolados 143 fungos (48 leveduras e 95 fungos filamentosos) (Tabela 2). As amostras que apresentaram maior quantidade de isolados foram 6 e 11, com 26 e 27 isolados respectivamente. Foi encontrada uma maior porcentagem de leveduras em relação aos fungos filamentosos na amostra 11 (48%) do que na amostra 6 (23%). A amostra 6 foi coletada próxima à vegetação *Cocolaba sp.* e *Cyperus ligularis* em local não inundado. A amostra 11 foi coletada em região com acúmulo de matéria orgânica em decomposição.

Discussão

A diversidade fúngica encontrada no solo de manguezal da Reserva de Sapiiranga demonstra a grande diversidade microbiológica encontrada nesse ecossistema altamente produtivo. De acordo com Zilli et al. [14], a diversidade microbiana serve como indicador da qualidade do solo, devido ao importante papel dos microrganismos para a manutenção dos ecossistemas. Fato importante, principalmente quando mencionado que a Reserva Ecológica de Sapiiranga é uma área ambiental recuperada.

A amostra 6, que apresentou boa quantidade de isolados (26), foi a única isolada em solo não inundado. Sabe-se que cerca de 80 à 90% dos microrganismos que habitam o solo se encontram em superfícies sólidas. A saturação do solo com água resulta na predominância de poucas espécies [4]. Quando a umidade é excessiva, a difusão de O₂ necessário para o metabolismo aeróbico é inadequada para a demanda microbiológica, afetando principalmente os fungos [15].

A quantidade de leveduras entre os isolados só foi significativa nas amostras 6, 10, 11 e 12. Segundo Lachance [16], leveduras exigem grandes quantidades de fonte orgânica de carbono e energia de peso molecular relativamente pequeno e são facilmente afetadas pelo ambiente circundante como fauna e flora ou efluentes. Sendo, portanto, mais exigentes quanto ao ambiente de crescimento. No ponto de coleta 11, o odor forte de decomposição indicou a presença de grande quantidade de matéria orgânica. Entretanto, no ponto 12, a atividade de escavação realizada pelos caranguejos para construir as

suas tocas, incrementa a heterogeneidade e a eficiência microbiológica na decomposição dos sedimentos [17].

Conclusões

Os resultados obtidos apontam para a grande diversidade de fungos existente no solo de manguezal.

Referências

- [1] UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ. Instituto de Ciências do Mar e outros. 2006. *Atlas dos manguezais do Nordeste do Brasil: avaliação das áreas de manguezais dos Estados do Piauí, ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba e Pernambuco*. Fortaleza. SEMACE. 125p.
- [2] MIRANDA, P.T.C.; NÓBREGA, R.M.N.A. *O que é manguezal?* Fortaleza, SEMACE, 1990. 26 p.
- [3] CANHOS, V.P. & MANFIO, P.F. 2001 [Online] Recursos Microbiológicos para Biotecnologia. Homepage: www.anbio.org.br/pdf/2/mct_recursos_biologicos.pdf.
- [4] NANNIPIERI, P.; ASCHER, J.; CECCHERINI, M.T.; LANDI, L.; PIETRAMELLARA, G. & RENELLA, G. 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*. 54:655-670.
- [5] MORAES, I. O. 2001. Produção de microrganismos. In: LIMA U.A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL. *Biotecnologia industrial. Processos Fermentativos e enzimáticos*. São Paulo. Edgard Blucher. 593p.
- [6] NOVOTNY, C.; SVOBODOVA, K.; ERBANOVA, P.; CAJTHAML, T.; KASINATH, A.; LANG, E. & SASEK, V. 2004. Ligninolytic fungi in bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate. *Soil biology & biochemistry*. 36: 1545-1551.
- [7] TSAI, S.M.; NEVES, M.C.P. & CARDOSO, E.J.B.N. 1992. *Microbiologia do solo*. Campinas, Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. 360p.
- [8] CLARIDGE, M.F.; DAWAH, H.A.; WILSON, M.R. 1997. Practical approaches to species concepts for living organisms. In: *Species: the Units of biodiversity* (Claridge, M.F., Dawah, H.A. and Wilson, M.R., Eds.), pp. 115. Chapman and Hall, London.
- [9] HAWKSWORTH, D.L.; ROSSMAN, A.Y. 1997. Where are all the undescribed fungi? *Phytopathology*, 87 (9): 888-891.
- [10] GARBEVA, P.; VAN EEN, J.A.; VAN ELSAS, J.D. 2004. Microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42: 243-270.
- [11] CHENG, Z..S.; PAN, J..H.; TANG, W. C.; CHEN, Q.J.; LIN, Y.C. 2009. Biodiversity and biotechnological potential of mangrove-associated fungi. *Journal of Forestry Research* , 20(1):63-72.
- [12] CLARK, F.E. 1965. Agar-plate method for total microbial count. In: BLACK, C.A.; EVANS, D.D.; WHITE, J.L.; ENSMINGER, L.E.; CLARCK, F.E.; DINAUER, R.C. (eds), *methods of soil analysis*, Part 2 – chemical and microbiological properties. New York: Madson Inc. p.1460-1466.
- [13] MARTIN, J. P. 1950. Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.* 69:215-32.
- [14] ZILLI, J. E.; RUMJANEK, N. G.; XAVIER, G. R.; COUTINHO, H. L. C. & NEVES, M. C. P. 2003. Diversidade microbiana como indicador de qualidade do solo. *Cadernos de Ciência & Tecnologia*. 20(3): 391-411.
- [15] ALEXANDER, M. 1997. *Introduction to soil microbiology*. New York. John Wiley & Sons. 467 p.
- [16] LACHANCE, M.A. & STARMER, W.T. 1998. Ecology and yeasts (Chapter 4). In: KURTZMAN, C.P. & FELL, J.W. *The Yeasts, A Taxonomic Study*. 4th ed. New York: Elsevier. p. 21-30.
- [17] KRISTENSEN, E. 2008. Mangrove crabs as ecosystem engineers; with emphasis on sediment processes. *Journal of Sea Research*. 59: 30-43.

Tabela 1. Características e coordenadas geográficas dos pontos de coleta.

Ponto de coleta	Características	Coordenadas	
		Latitude sul	Longitude oeste
01	Vegetação próxima: <i>Laguncularia racemosa</i>	3° 47' 33"	38° 27' 21"
02	Próximo à vegetação rasteira, espécies: <i>Mormodica sp.</i> , <i>Sporobolus virginicus</i> e <i>Blutaparon vermiculares</i> .	3° 47' 31"	38° 27' 21"
03	Vegetação próxima: <i>Avania germinaris</i> e <i>Sporobolus virginicus</i> .	3° 47' 29"	38° 27' 20"
04	Vegetação próxima: <i>Rizophora mangle</i> .	3° 47' 30"	38° 27' 18"
05	Vegetação próxima: <i>Rizophora mangle</i> (Local inundado e com odor de decomposição).	3° 47' 30"	38° 27' 18"
06	Vegetação próxima: <i>Cocolaba sp.</i> e <i>Cyperus ligularis</i> . Local não inundado.	3° 47' 29"	38° 27' 16"
07	Vegetação próxima: <i>Rizophora mangle</i> , <i>Avicennia sp.</i> e <i>Laguncularia racemosa</i> .	3° 47' 29"	38° 27' 15"
08	Vegetação próxima: <i>Rizophora mangle</i> .	3° 47' 28"	38° 27' 14"
09	Vegetação próxima: <i>Conocarpus erectus</i> e <i>Sporobolus virginicus</i> .	3° 47' 27"	38° 27' 13"
10	Vegetação próxima: <i>Avicennia sp.</i> , <i>Sporobolus virginicus</i> , <i>Laguncularia racemosa</i> e <i>Blutaparon vermicularis</i> .	3° 47' 28"	38° 27' 12"
11	Amostra coletada em local com acúmulo de matéria orgânica.	3° 47' 29"	38° 27' 11"
12	Local de lama elevada por caranguejos (toca de caranguejo). Vegetação próxima: <i>Cyperus ligularis</i> .	3° 47' 30"	38° 27' 12"

Tabela 2. Número de fungos isolados do manguezal da Reserva Ecológica de Sapiroanga.

Amostra	UFC.g ⁻¹ de solo	Quantidade de fungos		
		Total	Leveduras	Fungos filamentosos
01	49,5. 10 ⁴	6	0	6
02	44,0. 10 ⁴	3	0	3
03	2,5. 10 ⁴	11	1	10
04	6,0. 10 ⁴	5	1	4
05	2,2. 10 ⁴	11	2	9
06	15,2. 10 ⁴	26	6	20
07	8,6. 10 ⁴	10	3	7
08	59,0. 10 ⁴	6	1	5
09	3,9. 10 ⁴	6	0	6
10	5,0. 10 ⁴	19	12	7
11	2,5. 10 ⁴	27	13	14
12	13,5. 10 ⁴	13	9	4
Total de isolados		143	48	95



Figura 1. Vista geral da Reserva Ecológica de Sapiranga.

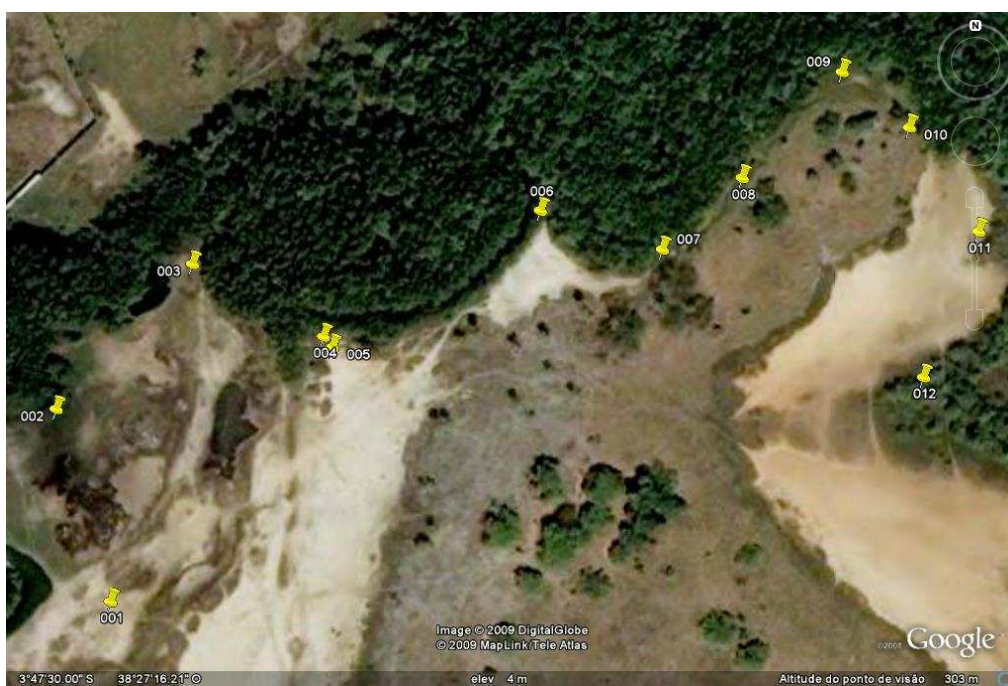


Figura 2. Localização geográfica dos pontos de coleta, marcados e enumerados de 1 à 12.

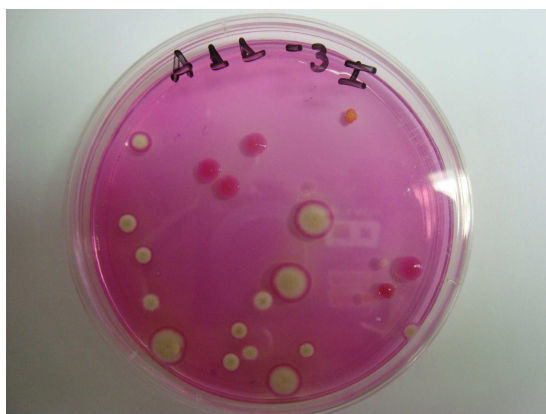


Figura 3. Colônias de fungos em meio de cultura Ágar-Martin.